

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2003-189845

(43)Date of publication of application : 08.07.2003

(51)Int.Cl.

C12N 1/12
A01G 33/00
C12N 1/20
// (C12N 1/12
C12R 1:89)
(C12N 1/20
C12R 1:20)

(21)Application number : 2001-396342

(71)Applicant : MARINE BIOTECHNOL INST CO LTD

(22)Date of filing : 27.12.2001

(72)Inventor : MATSUO YOSHIHIDE

(54) METHOD FOR CULTURING MARINE FOLIATE GREEN ALGA

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a means for culturing a marine foliate green alga such as *Ulva lactuca* or *Monostroma nitidum* for a long period without losing the form.

SOLUTION: This method for culturing the marine foliate green alga is characterized by culturing the marine foliate green alga in a culture medium containing a microorganism belonging to *Tenacibaculum* sp. or *Flavobacterium* sp. and exhibiting a thallus-forming activity or growth-promoting activity, or containing the supernatant of a culture solution of the microorganism.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2003-189845

(P2003-189845A)

(43) 公開日 平成15年7月8日 (2003.7.8)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テームコード* (参考)
C 1 2 N 1/12	Z N A	C 1 2 N 1/12	Z N A A 2 B 0 2 6
A 0 1 G 33/00		A 0 1 G 33/00	4 B 0 6 5
C 1 2 N 1/20		C 1 2 N 1/20	A
// (C 1 2 N 1/12		1/12	A
C 1 2 R 1:89)		C 1 2 R 1:89	
審査請求 未請求 請求項の数 5 O L (全 10 頁) 最終頁に続く			

(21) 出願番号 特願2001-396342(P2001-396342)

(22) 出願日 平成13年12月27日 (2001. 12. 27)

(出願人による申告) 国等の委託研究の成果に係る特許出願 (平成13年度新エネルギー・産業技術総合開発機構委託研究、産業活力再生特別措置法第30条の適用を受けるもの)

(71) 出願人 591001949

株式会社海洋バイオテクノロジー研究所
東京都文京区本郷1丁目28番10号

(72) 発明者 松尾 嘉英

静岡県清水市袖師町1900番 株式会社海洋
バイオテクノロジー研究所清水研究所内

(74) 代理人 100107870

弁理士 野村 健一 (外1名)

Fターム(参考) 2B026 AA05 AC03

4B065 AA01X AA27X AA83X BA22

BB28 CA60

(54) 【発明の名称】 海洋性葉状緑藻の培養方法

(57) 【要約】

【課題】 アオサ、ヒトエグサなどの海洋性葉状緑藻を形態を失わずに長期に培養する手段を提供する。

【解決手段】 テナシバキュラム属若しくはフラボバクテリウム属に属し、海洋性葉状緑藻に対し葉状体形成活性若しくは生長促進活性を示す微生物、又はこの微生物の培養液の培養上清を含む培地中で、海洋性葉状緑藻の培養を行うことを特徴とする海洋性葉状緑藻の培養方法。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 テナシバキュラム属若しくはフラボバクテリウム属に属し、海洋性葉状緑藻に対し葉状体形成活性若しくは生長促進活性を示す微生物、又はこの微生物の培養液の培養上清を含む培地中で、海洋性葉状緑藻の培養を行うことを特徴とする海洋性葉状緑藻の培養方法。

【請求項2】 微生物が、テナシバキュラム・アミロリテイクム又はフラボバクテリウム・ウリジノサムに属する微生物であることを特徴とする請求項1記載の海洋性葉状緑藻の培養方法。

【請求項3】 微生物が、テナシバキュラム・スピーシーズ YM-1-69株、フラボバクテリウム・スピーシーズ YM-2-23株、又はこれらの菌株の類似菌株であることを特徴とする請求項1記載の海洋性葉状緑藻の培養方法。

【請求項4】 海洋性葉状緑藻に対し葉状体形成活性又は成長促進活性を示すテナシバキュラム・スピーシーズ YM-1-69株、及びその類似菌株。

【請求項5】 海洋性葉状緑藻に対し葉状体形成活性又は成長促進活性を示すフラボバクテリウム・スピーシーズ YM-2-23株、及びその類似菌株。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、実験室内又は自然環境中において、海洋性葉状緑藻に対し葉状体形成および成長速度の増大を引き起こさせる微生物、及びそれらを用いた培養技術に関する。

【0002】

【従来の技術】海洋性葉状緑藻のアオサ・ヒトエグサ類はこれまでの合成培地では形態を維持したまま長期的に培養することが困難で、室内の培養では純化するに従いカルス状、あるいは単細胞状に藻体が崩れる現象が知られている(L. Provasoli; *Ulva*. Biol. Bull., 1958, 14, 375.; M. Tatewaki, L. Provasoli and I. J. Pinner; *J. Phycol.*, 1983, 19, 409.)。また、このように形態をうしなった藻体に滅菌しない海水を与えると葉状体回復や成長速度の増大が起こることが知られている。また、海洋由来の微生物を再感染させると葉状体の回復や成長速度の増大が起こる現象が知られているが、それら微生物の分類同定は行われていない。そのため、これまで室内におけるアオサ、ヒトエグサなどの海洋性葉状緑藻の培養細胞を用いた長期的な生理・生態研究、培養・保存が困難であった。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】海洋性葉状緑藻を微生物を使って形態をうしなわずに室内で長期に培養することが出来れば、生理・生態研究のほかに養殖種である食用ヒトエグサ類の種苗の維持管理など実用的な培養手法として確立することが出来る。また、室内培養や養殖現場において成長速度をあげ収穫量の増大を見込むこと

が出来る。本発明は、このような微生物を提供することを目的とする。

【0004】

【課題を解決するための手段】本発明者は、上記課題を解決するために検討を重ねた結果、海洋中から葉状体形成を誘引する微生物を見だし、この知見から本発明を完成するに至った。

【0005】即ち、本発明は、テナシバキュラム属若しくはフラボバクテリウム属に属し、海洋性葉状緑藻に対し葉状体形成活性若しくは生長促進活性を示す微生物、又はこの微生物の培養液の培養上清を含む培地中で、海洋性葉状緑藻の培養を行うことを特徴とする海洋性葉状緑藻の培養方法である。

【0006】また、本発明は、海洋性葉状緑藻に対し葉状体形成活性又は成長促進活性を示すテナシバキュラム・スピーシーズ YM-1-69株、及びその類似菌株である。

【0007】更に、本発明は、海洋性葉状緑藻に対し葉状体形成活性又は成長促進活性を示すフラボバクテリウム・スピーシーズ YM-2-23株、及びその類似菌株である。

【0008】

【発明の実施の形態】以下、本発明を詳細に説明する。

【0009】本発明の海洋性葉状緑藻の培養方法は、テナシバキュラム属若しくはフラボバクテリウム属に属し、海洋性葉状緑藻に対し葉状体形成活性若しくは生長促進活性を示す微生物、又はこの微生物の培養液の培養上清を含む培地中で、海洋性葉状緑藻の培養を行うことを特徴とするものである。

【0010】海洋性葉状緑藻としては、アオサ (*ULVAE* S) 目の海藻で、例えば、ヒトエグサ科 (*Monostromataceae*)、アオサ科 (*Ulvaceae*) などの緑藻を挙げることができる。具体的には、ヒトエグサ科に属する海藻としてヒトエグサ属ヒトエグサ (*Monostroma nitidum*)、同属マキヒトエ (*Monostroma oxyspermum*)、同属エゾヒトエグサ (*Monostroma angicava*) アオサ科に属する海藻としてアオノリ属ヒラアオノリ (*Enteromorpha compressa*)、同属ボウアオノリ (*Enteromorpha intestinalis*)、同属ウスバアオノリ (*Enteromorpha linza*)、アオサ属ボタンアオサ (*Ulva conglobata*)、同属アナアオサ (*Ulva pertusa*) などを例示することができる。

【0011】微生物としては、テナシバキュラム属又はフラボバクテリウム属に属し、海洋性葉状緑藻に対し葉状体形成活性又は生長促進活性を示すものであればどのようなものでもよいが、テナシバキュラム・アミロリテイクム (*Tenacibaculum amylolyticum*) 又はフラボバクテリウム・ウリジノサム (*Flavobacterium uliginosum*) に属する微生物を使用するのが好ましい。また、微生物としては、テナシバキュラム・スピーシーズ (*Tenacibaculum* sp.) YM-1-69株やフラボバクテリウム・スピーシーズ (*Flavobacterium* sp.) YM-2-23株を使用して

もよい。YM-1-69株やYM-2-23株の代わりに、これらの菌株の類似菌株を使用してもよい。「YM-1-69株の類似菌株」には、例えば、海洋性葉状緑藻に対し葉状体形成活性又は生長促進活性を示す菌株であって、配列番号1記載の塩基配列と95%以上相同な塩基配列で表される16S rRNA V3領域遺伝子を持つ菌株や配列番号3記載の塩基配列と95%以上相同な塩基配列で表されるgyrB遺伝子を持つ菌株が含まれる。「YM-2-23株の類似菌株」には、例えば、海洋性葉状緑藻に対し葉状体形成活性又は生長促進活性を示す菌株であって、配列番号2記載の塩基配列と95%以上相同な塩基配列で表される16S rRNA V3領域遺伝子を持つ菌株や配列番号4記載の塩基配列と95%以上相同な塩基配列で表されるgyrB遺伝子を持つ菌株が含まれる。16SrRNA V3領域遺伝子及び/又はgyrB遺伝子の塩基配列がYM-1-69株やYM-2-23株のそれと同一である菌株は、これらの類似菌株の中でも特に好ましい菌株である。

【0012】本発明に使用する菌株は、例えば、海洋性葉状緑藻に対する葉状体形成活性又は生長促進活性を指標に藻類表面、海水、海綿動物などの海洋環境からスクリーニングにより分離することができる。分離培地としては、1/10マリンアガーを使用することができ、これは以下のように調製することが可能である。培地1リットルにつき蒸留水100ミリリットル、海水900ミリリットル、ディフコ社製のマリンブロス3.7グラム、精製寒天15グラムをスターラーなどで混合し、121度、20分オートクレーブ、50～60度にまで放冷したのちシャーレに分注して作製する。本発明の微生物を分離する場合は、まず海洋環境から得られた藻類や海綿動物などの切片に少量の滅菌海水を加え、激しくボルテックスして得られたサンプル溶液を滅菌海水で10倍、100倍で適宜希釈する。この液を100マイクロリットルずつ1/10マリンアガープレートに分注し、滅菌済みのコンラージ棒でプレート全体に塗り広げる。このプレートを室温で1～数日にわたって放置し、生えてくるコロニーを新たな1/10マリンアガープレートに植え継いで単離を行う。菌を拾う際は、黄～赤のコロニー(CFB like bacteria)を選んで拾うと上記活性を示す微生物の分離確率を約10倍に高めることができる。

【0013】本発明に使用する微生物の培養及び増殖は、テナシバキュラム属又はフラボバクテリウム属に属する既知の菌株と同様の方法で行うことができ、例えば、温度20～30℃で、マリンブロスなどの培地で培養し、増殖させることが可能である。

【0014】海洋性葉状緑藻の培養に使用する培地は、特定の微生物やその培養上清を含むこと以外は、従来の培養方法(海洋性葉状緑藻が単細胞化してしまう培養方法)で使われていたものと同様のものでよく、例え

ば、ASP7培地、PES培地、PES1培地など、あるいは単に滅菌済みの海水を使用することができる。培地中の微生物や培養上清の量は、海洋性葉状緑藻に葉状体形成や成長促進を誘引することができる限り、特に限定されないが、微生物の場合、藻類培養培地1ミリリットルに対してマリンブロス等で培養した微生物を直接10⁶細胞程度が適当であり、培養上清の場合、藻類培養培地1ミリリットルに対して培養上清0.01から1マイクロリットル程度が適当である。

【0015】培養時の温度は、海洋性葉状緑藻が生存できる範囲内であれば特に制限はないが、15～25℃程度が適当である。

【0016】

【実施例1】 微生物の単離

本発明に使用する菌株は以下のように単離した。採集した新鮮藻体約1グラムに滅菌済みの海水10ミリリットルを添加し、1分程度激しくボルテックスした。上清を滅菌済み海水でさらに10倍、100倍希釈し、そのうち100マイクロリットルを1/10マリンアガープレートに分注し、滅菌済みのコンラージ棒でプレート全体に塗り広げた。室温で2～3日後に成長した黄～赤色のコロニーをそれぞれ別のマリンアガープレートに植菌し、単菌化されるまで植菌を続けた。24穴あるいは48穴のマイクロプレートに2ないし1ミリリットルのASP7培地を分注し、それぞれのウェルに単細胞化したマキヒトエを20細胞程度添加した。これに単菌化した各分離株のコロニーを滅菌済みの白金耳などを使って2穴ずつ直接接種した。このプレートを19～22℃、明期14時間/暗期10時間で5日間培養し、マキヒトエの葉状体形成を倒立顕微鏡下で確認した。葉状体の形成がみられた菌株については上記と同じ方法で追試をおこなって確認をした。以上のようなスクリーニングの結果、葉状体形成活性を示す菌株として、YM-1-69株とYM-2-23株が単離された。YM-1-69株はサボテングサ(*Halimeda opuntia*) (緑藻ミル目) から単離された菌株であり、YM-2-23株はヒトエグサ(*Monostroma nitidum*) (緑藻アオサ目) から単離された菌株である。

【実施例2】 微生物の同定

実施例1で得られた微生物の16S rRNA V3領域およびgyrB遺伝子のDNA塩基配列を決定した。YM-1-69株の16S rRNA V3領域及びgyrB遺伝子のDNA塩基配列をそれぞれ配列番号1及び配列番号3に示す。また、YM-2-23株の16S rRNA V3領域及びgyrB遺伝子のDNA塩基配列をそれぞれ配列番号2及び配列番号4に示す。得られた配列についてデータベース検索(DDBJ-fasta)を行った結果、各配列は表1に示す微生物の配列と高い相同性を示した。

【0017】

【表1】

配列	相同性 (%)	近縁配列を持つ生物	Accession Number
1	95.26	<i>Tenacibaculum amylolyticum</i>	AB032505
2	94.18	<i>Flavobacterium uliginosum</i>	M62799
3	84.91	<i>Tenacibaculum amylolytica</i>	AB032586
4	78.18	<i>Flavobacterium uliginosum</i>	AB034224

また、YM-1-69株及びYM-2-23株の生理生化学的性質につ

*【0018】

いて調査した結果を表2に示す。

*【表2】

生理生化学的性質	YM-1-69	YM-2-23
グラム反応	—	—
カタラーゼ活性	+	+
オキシダーゼ活性	+	+
OF試験	O	F
マグネシウムあるいはカルシウムの要求	+	+
硝酸塩の還元	+	+
インドール産生	—	—
ゼラチン加水分解	—	—
デンプン加水分解	+	+
DNA加水分解	+	+
Tween80加水分解	+	+
エスクリン加水分解	+	+
アルギニンジヒドロラーゼ活性	—	—
ウレアーゼ活性	—	—
β -グルクトシダーゼ活性	—	+
クエン酸の利用	—	—
シモンズ培地	—	—
クリステンセン培地	—	—

+：陽性、—：陰性

表1及び表2の結果から、YM-1-69株はテナシバキュラム・スピーシーズ (*Tenacibaculum* sp.) と同定され、YM-2-23株はフラボバクテリウム・スピーシーズ (*Flavobacterium* sp.) と同定された。*Tenacibaculum* sp. YM-1-69株及び*Flavobacterium* sp. YM-2-23株は、独立行政法人産業技術総合研究所特許生物寄託センターにそれぞれ受託番号FERM P-18479及びFERM P-18478として寄託されている（寄託日：平成13年8月30日）。

【実施例3】 マキヒトエ培養実験

抗生物質等で無菌化処理したマキヒトエ (*Monostroma o* *xyspermum*) はASP7などの合成培地中では天然に見られるような葉状形態を失い、ほぼ単細胞状態となる。

【0019】単細胞状態のマキヒトエを培地1ミリリットルあたり10～50細胞用意し、ここにYM-1-69株及びYM-2-23株をマリンプロスで一晩培養した培養液 (10^6 セル/マイクロリットル程度の微生物が含まれる) を1マイク

ロリットル添加し、19～22度、明期14時間/暗期10時間 ※

改変 ASP7 培地 (1リットル分、pH 7.8～8.0)

蒸留水	950 mL
NaCl	25 g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	9 g
KCl	700 mg
CaCl ₂	840 mg
Tris-HCl	1 g
NaNO ₃	50 mg
Na ₂ -glyceroPO ₄	20 mg
Na ₂ SiO ₃ · 9H ₂ O	70 mg
Vitamin B12	1 μ g
Nitrilotriacetic acid	70 mg
Vitamin Mix S3 *1	10 mL
PII metals *2	30 mL
S2 metals *3	5 mL

20 ※のサイクルで培養した。培養開始後5日程度で小さな葉状体を確認することが出来た。また、培地を交換する場合は、同様にして調製した微生物培養液を再度添加した。藻体が成長し、容器と培地の量を大きくする場合は、同程度の比を保ちながら微生物培養液を添加した。培養開始から20日目の藻体の状態を図1に示す。図1に示すように、何も添加しないマキヒトエは単細胞のままだが（左図）、YM-2-23株を添加した場合は葉状体の形成が見られた（右図）。マキヒトエの成長にともなって容器を大きくした場合でも葉状体は維持し続け、約2ヶ月間の培養で図2のような大きな藻体にまで成長させることが出来た。

【0020】なお、ASP7の培地組成は以下の通りである。

【0021】

【表3】

【0022】

【表4】

7

*1 Vitamin Mix S3

蒸留水	100 mL
Thiamin-HCl	5 mg
Nicotinic acid	1 mg
Calcium pantothenate	1 mg
p-Aminobenzoic acid	0.1 mg
Biotin	0.01 mg
Inositol	50 mg
Thymine	30 mg
Folic acid	0.02 mg

【0023】

【表5】

*2 PII metals

蒸留水	1000 mL
Na ₄ -EDTA	1 g
Fe (as Cl ⁻)	10 mg
B (H ₃ BO ₃)	0.2 g
Mn (as Cl ⁻)	40 mg
Zn (as Cl ⁻)	5 mg
Co (as Cl ⁻)	1 mg

* 【0024】

【表6】

10

*

*3 S2 metals

蒸留水	500 mL
Mo (as Na ₂ MoO ₄)	25 mg
Br (as Na ⁺)	500 mg
Sr (as Cl ⁻)	100 mg
Rb (as Cl ⁻)	10 mg
Li (as Cl ⁻)	10 mg
I (as K ⁺)	0.5 mg
V (as V ₂ O ₅)	0.05 mg

【実施例4】 マキヒトエの遊走細胞放出・培養実験
培養時の温度を15～19度とし、それ以外は実施例3と同様の方法で、単細胞状態のマキヒトエをYM-1-69株及びYM-2-23株の存在下で培養した。培養開始から7日目の状態を図3に示す。図3に示すように、この温度では、母藻から遊走細胞の放出が起こった。その後、YM-1-69株及びYM-2-23株の存在下で培養を続けると、実施例3の場合と同様に葉状体の形成が起こった。

【実施例5】 アオサ、ボウアオノリの培養実験
西伊豆で採集したアナアオサ (*Ulva pertusa*)、ボウアオノリ (*Enteromorpha intestinalis*) から得られた遊走細胞を抗生物質混液添加PES培地で5日間の無菌化処理を行い、PES培地中でほかに何も加えない場合と、YM-1-69株及びYM-2-23株を実施例3の場合と同様に添加した場

※合とを比較した。その結果を図4に示す。図4の左上が微生物を添加しない場合のアオサ、右上が微生物を添加した場合のアオサ、左下が微生物を添加しない場合のボウアオノリ、右下が微生物を添加した場合のボウアオノリである。図4に示すように、微生物を添加しない場合は、アオサ、ボウアオノリは正常に生長することができなかったが、微生物を添加した場合は著しい成長速度の増大が見られた。成長した葉状体の面積比から、何も添加しない場合に比べて10倍以上の成長速度の増大を見積もることが出来た。

【0025】なお、PESの培地組成は以下の通りである。

【0026】

【表7】

PES 培地 (1 リットル分、pH 7.8)

海水	980 mL
PES (pH 7.8)	20 mL
蒸留水	750 mL
NaNO ₃	3.5 g
Na ₂ -glycero-PO ₄	0.5 g
Fe (as EDTA 1:1)	0.025 g
PII metals	250 mL
Vitamin B12	100 ug
Thiamine	5 mg
Biotin	50 ug
Iris-HCl	5 g

また、抗生物質混液添加PES培地は、PES培地に以下の組成を持つ抗生物質混液を2%添加したものである。

【0027】

【表8】

抗生物質混液

蒸留水	1000 mL
Penicillin	100 mg
Streptomycin	200 mg
Kanamycin	100 mg

エグサなどの海洋性葉状緑藻の新規な培養・繁殖技術を提供する。この方法によれば、実験室内や繁殖種苗生産、繁殖現場等での海洋性葉状緑藻の安定な成長と生産

と行うことが可能である。

【0028】

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> MARINE BIOTECHNOLOGY INSTITUTE CO., LTD.

<120> METHOD FOR CULTIVATING MARINE FOLIATE GREEN ALGAE

<130> P01-073

<160> 4

<170> Patent In Ver. 2.1

<210> 1

<211> 190

<212> DNA

<213> *Tenacibaculum* sp.

<400> 1

CCTACGGGAG GCAGCAGTGA GGAATATTGG TCAATGGAGG CAACTCTGAA CCAGCCATGC 60
CGCGTGATAG AAGACTGCCC TATGGGTTGT AAACCTACTTT TATATGGGAA GAAACCCCTC 120
TTACGTGTAG AGGCTTGACG GTACCATAAG AATAAGCACC GGCTAACTCC GTGCCAGCAG 180
CCGCGGTAAT 190

<210> 2

<211> 190

<212> DNA

<213> *Flavobacterium* sp.

<400> 2

CCTACGGGAG GCAGCAGTGA GGAATATTGG ACAATGGGCG GGAGCCTGAT CCAGCCATGC 60
CGCGTGCGGG AAGAAGGCCC TATGGGTCGT AAACCGCTTT TATACGGGAA GAAACCACCC 120
TACGTGTAGG GTACTGACGG TACCGTAAGA ATAAGGACCG GCTAACTCCG TGCCAGCAGC 180
CGCGGTAAT 189

<210> 3

<211> 1173

<212> DNA

<213> *Tenacibaculum* sp.

<400> 3

GTATCTGGAG GTTTACACGG AGTTGGTGTA TCTTGTGTGA ATGCACTTTC AGATCATTTA 60
AAAGCTACAG TTCACAGAGA AGGTAAAATA TGGGAACAAG AGTATGAACG TGGTAAAACA 120
CTTTATCCTG TAAAACTGT AGGTGAACT GATATAACTG GTACAGAAGT AACTTTCTTA 180
CCAGACAAAA GTATTTTCCA ACAAACCACA GAATATAATT ACGAAACGTT AGCTACACGT 240
ATGCGTGAGT TAGCGTATCT TAATAAAGGA ATCAGGATTA CGTTAACAGA TAAGCGTAAT 300
AAAGATGATG AAGGAAATTT TATTGCTGAA ACTTTCCACA GTAACGAAGG ATTATCTGAA 360
TTTGTTAAAT ATTTAGATAG TACTCGTACT CCTGTTATTC AGCATGTAAT TTCAATGGAA 420
GGTGAGAAAA ACGGAATTCC TGTGAGGTT GCAATGATTT ATAATGATTC ATATGCTGAA 480
AATTTACATT CTTATGTAAA TAACATTAAT ACTCAGGAAG GAGGAACACA TTTATCAGGA 540
TTTAGAAGAG GTTTAACAAG TACTTTAAAG AAATATGCAG ATAATTCTGG ATTACTAAAG 600
AACGTTAAGT TTGAGATTTC TGGAGATGAT TTCCGTGAAG GTTTAACGGC AATTGTATCT 660
GTAAAAGTAG CTGAACCTCA GTTTGAAGGA CAAACAAAAA CAAAATTAGG AAACAGAGAA 720
GTTACTTCTG CAGTATCGCA AGCTGTAGCA GAAATGTAA CTGATTATTT AGAGGAAAAT 780
CCTAATGATG CTAACACGAT TGTACAAAAA GTAATTCTTG CAGCTCAAGC GCGTCACGCA 840
GCTCGTAAAG CAAGAGAAAT GGTGCAACGT AAAACAGTAA TGAGTATTGG AGGTTTACCT 900
GGTAACTAT CTGATTGTTT TGAACTGAT CCAGCAGTTT GTGAAATTTT CTTAGTCGAG 960
GGAGATTCCG CAGGTGGAAC TGCAAAACAA GGTGCTGATC GTAATTTCCA AGCAATTTTA 1020

CCCTTACGTG GTAAGATTCT TAACGTAGAA AAAGCGATGC AGCATAAAGT TTTTGAGAAT 1080
 GAAGAAATCA AAAACATGTT TACGGCTTTA GGAATCACTA TCGGAACAGA AGAAGATCCA 1140
 AGAGCATTAA ACTTATCAAA ATTAAGATAT CAT 1173

<210> 4

<211> 1173

<212> DNA

<213> *Flavobacterium* sp.

<400> 4

GTATCCGGTG GTTTGCACGG GGTAGGTGTT TCTTGTGTGA ACGCCCTTTC CAATCATCTT 60
 AAAGCTACCG TACATAGAGA TGGGAAAGTT TGGGAACAGG AATATGAACG GGGTAAATCC 120
 CTTTATCCCG TAAAAAGTGT TGGGAGAGCC GATGAACTG GAACCATTGT TACCTTCATA 180
 CCAGATGATT CAATCTTTAC CCAAACAACA GAGTATAGTT ATGAGACCCT TGCCAACAGA 240
 ATGCGTGAGC TTTCGTTCTT GAACAAAGGG GTTACCATTG GCATTACGGA CAAAAGAGTA 300
 AAGGATAAAG AAGGGGAGTA CCTTTCTGAA ACTTTTTATT CCGATGCTGG ACTAAGTGAA 360
 TTTGTTAAGT TCTTGGATGG TACCGTGAA CCTTTGATTC AAGGGGTTAT CGCGATGGAA 420
 GGGGAGAAAA ATGGTATCCC TGTGGAAGTG GCAATGGTTT ACAACACCAG TTACACGGAG 480
 AATTTACATT CCTATGTGAA TAACATTAAC ACGCACGAAG GGGGTACGCA TCITTCGGT 540
 TTTAGAAGGG GATTGACCTC TACTTTAAAG AAATACGCAG ATTCTTCTGG AATGCTCGAG 600
 AAATTGAAGT TTGAGGTTCA GGGAGATGAT TTCCGTGAAG GACTTACAGC AATTGTTTCC 660
 GTTAAGGTCG CAGAACCTCA ATTTGAAGGT CAGACGAAAA CCAAGCTTGG AAACCGCGAG 720
 GTTCTTCTG CGGTGAGCCA AGCTGTTTCT GAAATGCTCA CGGATTATTT GGAGGAGCAT 780
 CCAGATGATG CCAAGGTTAT TGTTCAAAAA GTTATCCTTG CCGCTCAGGC CAGACATGCC 840
 GCTACAAAGG CCCGTGAAAT GGTACAGCGT AAGACGGTAA TGAGTATTGG TGGGCTACCT 900
 GGAAAAATTGT CCGATTGTTT TGAGCAAGAT CCTGCGCAAT GTGAAGTATT TCTTGTAGAG 960
 GGAGATTCTG CAGGTGGTAC GGCAAAAATG GGCCGGGACC GAAAATTTCA GGCCATTCTT 1020
 CCACTAAGGG GTAAAATCTT GAACGTGGAA AAAGCCATGC AGCACAAGGT TTTTGAAAAT 1080
 GAGGAAATAA AGAATATTTA TACGGCCCTA GGGGTTACTA TTGGAACGGA AGAAGATAGT 1140
 AAGGCCTTGA ACCTGGAAAA ATTAAGATAT CAT 1173

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の培養方法によって20日間培養されたマ
 キヒトエを示す図 30

【図2】本発明の培養方法によって2ヶ月間培養された

マキヒトエを示す図

【図3】遊走子を放出するマキヒトエを示す図

【図4】本発明の培養方法によって培養されたアオサ及
 びボウアオノリを示す図

【図1】

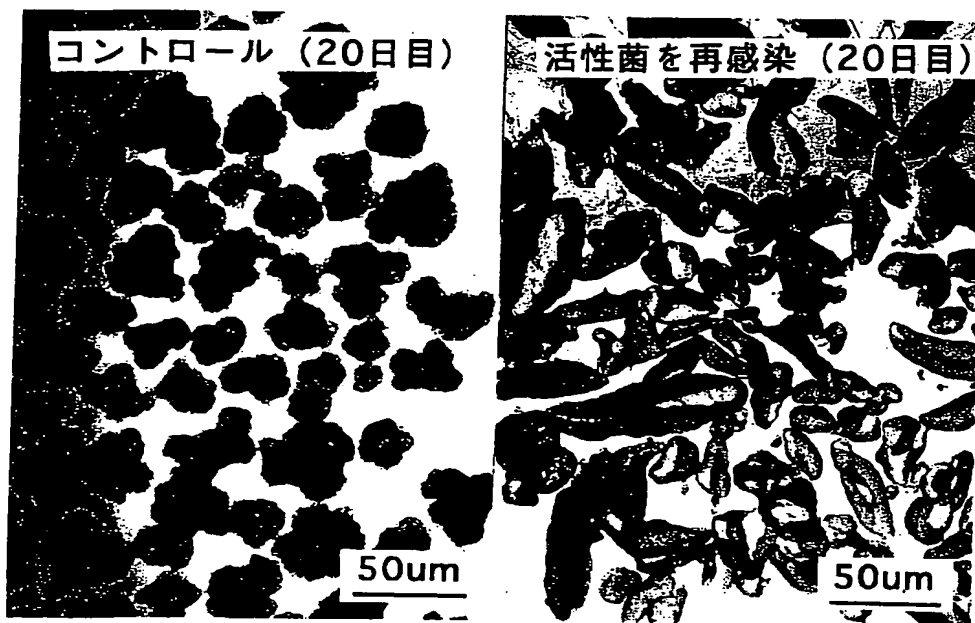


図1. なにも添加しないマキヒトエは左上の図のように緩い塊にしかならないが、活性菌が存在すると右上の図のように葉状体の形成が起こる。

【図2】



図2. 単細胞のマキヒトエに活性菌を添加して形成した葉状体を丸形フラスコに移し、2ヶ月間通気培養を行った。マキヒトエは細胞が一層であるため通気攪拌等で容易に裂けてしまうが一つの細胞から大きな葉状体を得ることが出来た。

【図3】

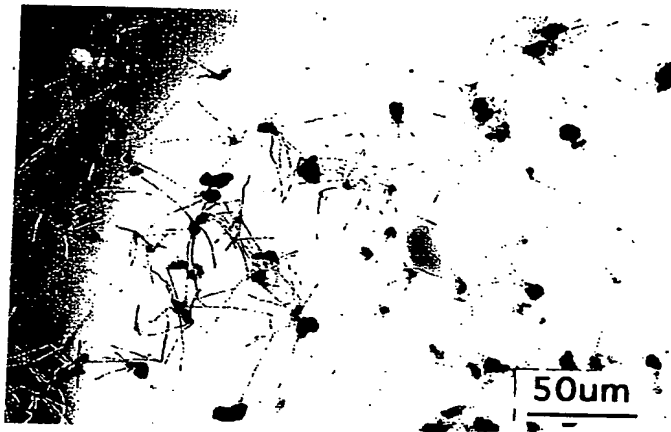


図3. 無菌状態でのマキヒトエは見る事が出来ない遊走子の放出を、活性菌を添加することにより引き起こす事が出来る。こうして得られた遊走子は活性菌が存在する状態で正常に成長することが出来る。

【図4】

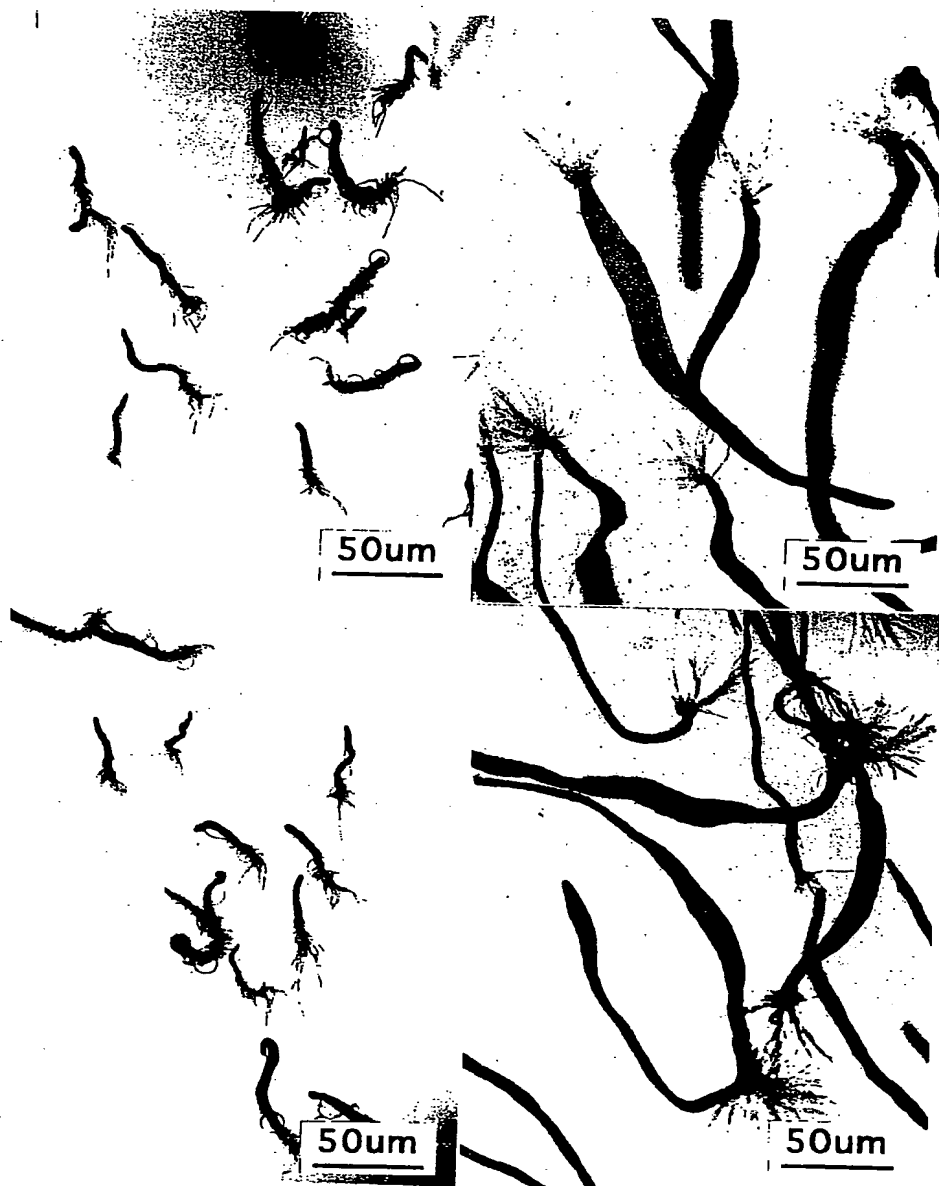


図4. アオサ、ボウアオノリに対する活性菌の影響 アオサ活性菌なし（左上）、アオサ活性菌あり（右上）、ボウアオノリ活性菌なし（左下）、ボウアオノリ活性菌あり（右下）

フロントページの続き

(51) Int.Cl.⁷

識別記号

F I

テーマコード(参考)

(C 1 2 N 1/20

C 1 2 R 1:20

C 1 2 R 1:20)